

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | | |
|---|--|---|--|
| (51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : A61K 31/4741, 31/553, A61P 9/10, 9/12, 25/08, 1/18, A61K 31/00, A61P 25/28, 1/16, 1/04, 11/00, 43/00, 17/00, 3/10 | | A1 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/62781 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 26. Oktober 2000 (26.10.00) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/03578 (22) Internationales Anmeldedatum: 19. April 2000 (19.04.00) (30) Prioritätsdaten: 199 17 990.5 20. April 1999 (20.04.99) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: LANG, Florian [DE/DE]; Eberhard Karls Universität, Medizinische Fakultät, Physiologisches Institut I, Gmelinstrasse 5, D-72076 Tübingen (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WALDEGGER, Siegfried [DE/DE]; Bebelallee 138, D-22297 Hamburg (DE). WAGNER, Carsten [DE/DE]; Habichtweg 6, D-72076 Tübingen (DE). BRÖER, Stefan [DE/DE]; Bodäckerstrasse 9, D-72770 Reutlingen-Ohmenhausen (DE). KLINGEL, Karin [DE/DE]; Hefelestrasse 16, D-72108 Rottenburg (DE). (74) Anwalt: ISENBRUCK, Günter; Bardehle, Pagenberg, Dost, Altenburg, Geissler, Isenbruck, Theodor-Heuss-Anlage 12, D-68165 Mannheim (DE). | | (81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i> | |
| (54) Title: MEDICAMENTS CONTAINING INHIBITORS OF CELL-VOLUME REGULATED HUMAN KINASE H-SGK (54) Bezeichnung: ARZNEIMITTEL ENTHALTEND HEMMSTOFFE DER ZELLVOLUMENREGULIERTEN HUMANEN KINASE H-SGK (57) Abstract <p>The invention relates to medicaments which contain inhibitors or activators of cell-volume regulated human kinase h-sgk. Medicaments of this type are suitable for treating conditions, in which an increased or reduced expression of h-sgk is identified.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die vorliegende Erfindung betrifft Arzneimittel, enthaltend Hemmstoffe oder Aktivatoren der zellvolumenregulierten humanen Kinase h-sgk. Solche Arzneimittel sind zur Therapie von Krankheitszuständen, bei denen eine gesteigerte oder verminderte Expression der h-sgk gefunden wird, geeignet.</p> | | | |

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|---|----|--------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidshan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | ML | Mali | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | MN | Mongolei | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MR | Mauretanien | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MW | Malawi | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MX | Mexiko | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen | | |
| CM | Kamerun | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CN | China | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CU | Kuba | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| CZ | Tschechische Republik | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DE | Deutschland | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| DK | Dänemark | LR | Liberia | SG | Singapur | | |
| EE | Estland | | | | | | |

Arzneimittel enthaltend Hemmstoffe der zellvolumenregulierten humanen Kinase h-sgk

Die vorliegende Erfindung betrifft Arzneimittel, enthaltend Hemmstoffe oder Aktivatoren der zellvolumenregulierten humanen Kinase h-sgk. Solche Arzneimittel sind zur Therapie von Krankheitszuständen, bei denen eine gesteigerte oder verminderte Expression der h-sgk gefunden wird, geeignet. Die h-sgk sowie Verfahren zu ihrer Herstellung wurden bereits in der EP-0 861 896 beschrieben, deren Inhalt ausdrücklich auch Bestandteil der vorliegenden Beschreibung sein soll.

10 Begriffsbestimmungen:

h-sgk: human serum and glucocorticoid dependent kinase (Serin/Threonin-Kinase)

ENaC: epithelialer Na⁺-Kanal

MDEG: mammalian degenerin (Waldmann, R., Lazdunski, M. (1998) Current Opinion in Neurobiology 8: 418-424); ein synonymer Begriff ist "BNC" (brain Na⁺-channel)

TGFβ₁: tumor growth factor β₁

NKCC : Na⁺-, K⁺-, 2Cl⁻-Cotransporter

HEPES: [4-(2-Hydroxyethyl)-piperazino]-ethanesulfonsäure

SEM: standard error of mean

20 Transdominant-inhibitorische Kinase:

durch Mutation veränderte h-sgk: Lysin in der Position 127 wurde durch Arginin ersetzt (K127R); die Mutation liegt in der katalytischen Region und unterbindet die katalytische Funktion der Kinase.

25 Eine gesteigerte Expression der h-sgk wird bei Diabetes mellitus, Arteriosklerose, M. Alzheimer, Leberszirrhose, M. Crohn, fibrosierender Pankreatitis, Lungenfibrose und chronischer Bronchitis vermehrt gefunden. Die gesteigerte Bildung der h-sgk kann durch Stimulation der Expression durch TGFβ₁ erklärt werden (Fig. 1). Fibrosierende Erkrankungen werden durch gesteigerte Bildung und herabgesetzten Abbau von Matrixproteinen hervorgerufen. Beides sind Wirkungen von TGFβ₁. In Fibroblasten kann die gesteigerte

30

Expression der Matrixproteine durch Hemmung des NKCC mit Furosemid unterbunden werden (Fig. 2). Bisher war unklar, ob die gesteigerte Expression der h-sgk nur Folge oder Ursache der Erkrankung ist.

Überraschende Befunde belegen nun, daß die h-sgk den Na^+ -, K^+ -, 2Cl^- -Cotransport aktiviert (Fig. 3). Daraus kann geschlossen werden, daß die Stimulation des NKCC durch h-sgk Fibrosierung auslöst. Neben dem Na^+ -, K^+ -, 2Cl^- -Cotransport wird noch der ENaC (Fig. 4 u. 5) und der MDEG durch die h-sgk aktiviert.

Die stimulierende Wirkung der h-sgk auf den ENaC kann durch Kinase-Hemmstoffe, wie beispielsweise Staurosporin (Sigma, D-82041 Deisenhofen) oder Chelerythrin (Sigma, loc. cit.) unterbunden werden (Fig. 4). Darüberhinaus läßt sich die Wirkung der h-sgk auf den ENaC beispielsweise durch transdominant inhibitorische Kinase unterdrücken (Fig. 5). Hemmstoffe der h-sgk, wie Staurosporin, Chelerythrin oder weitere Kinase-Hemmer könnten daher bei der Therapie der oben genannten Erkrankungen eingesetzt werden. Generell kommen dafür alle bekannten Kinase-Hemmer in Betracht. Kinase-Hemmer sind in vielen Fällen auch kommerziell erhältlich, beispielsweise von Calbiochem-Novabiochem GmbH, Lisztweg 1, D-65812 Bad Soden (siehe "1998 General Catalog"). Weitere Kinase-Hemmer sind aus anderen dem Fachmann bekannten kommerziellen und nichtkommerziellen Quellen erhältlich.

Die h-sgk wird bei einem epileptischen Anfall vermehrt exprimiert. Die von uns gefundenen funktionellen Daten zeigen, daß die Wirkungen geeignet sind, die Erregbarkeit von Neuronen zu reduzieren, da die Aktivierung des NKCC zu einer Senkung der extrazellulären K^+ -Konzentration führt, die eine Hyperpolarisation und damit Hemmung der Aktivität von Neuronen nach sich zieht. Darüberhinaus sollte die Hemmung des MDEG die neuronale Erregbarkeit hemmen. Demnach könnten Aktivatoren der Kinase, die die Bluthirnschranke überschreiten, bei epileptischen Anfällen mit Erfolg eingesetzt werden. Umgekehrt könnte eine Hemmung der Kinase mit, die Blut-Hirn-Schranke überschreitenden, Pharmaka die Aufmerksamkeit und Lernfähigkeit steigern. Auch Aktivatoren von Kinasen sind dem Fachmann seit längerem bekannt, unter denen besonders die Proteinkinase C-Aktivatoren von Interesse sind (siehe beispielsweise Calbiochem-Novabiochem 1998 General Catalog, loc. cit.). Weitere Kinase-Aktivatoren sind aus anderen dem Fachmann bekannten kommerziellen und nichtkommerziellen Quellen erhältlich.

Da der Na^+ -, K^+ -, 2Cl^- -Cotransport und der Na^+ -Kanal für die renale Na^+ -Resorption entscheidend sind und eine gesteigerte renale Na^+ -Resorption mit Hypertonie einhergeht, muß angenommen werden, daß gesteigerte Expression der Kinase zu Hypertonie und verminderte Expression der Kinase zu Hypotonie führen.

- 5 Die vorliegende Erfindung betrifft somit auch die Verwendung von Hemmstoffen der h-sgk zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Diabetes mellitus, Arteriosklerose, M. Alzheimer, Leberszirrhose, M. Crohn, fibrosierender Pankreatitis, Lungenfibrose, chronische Bronchitis, Strahlenfibrose, Sklerodermie, zystische Fibrose und weitere fibrosierende Erkrankungen sowie zur Therapie einer arteriellen Hypertonie. Darüberhinaus können
- 10 Arzneimittel enthaltend Hemmstoffe oder Aktivatoren der h-sgk zur Regulation der neuronalen Erregbarkeit eingesetzt werden. Insbesondere vorteilhaft ist die Verwendung der Hemmstoffe Staurosporin oder Chelerythrin sowie ihrer Analoga.

ERGEBNISSE

15 Diabetische Niere:

In der normalen Niere wird die h-sgk nur spärlich exprimiert. Einzelne Zellen in Glomerulum, spätem proximalem und distalem Tubulus zeigen deutliche h-sgk-Expression. Im Gegensatz dazu finden sich in der diabetischen Niere Anhäufungen von Zellen mit massiver h-sgk-Expression.

Arteriosklerose:

In den Gefäßwänden bei arteriosklerotischen Gefäßen finden sich vermehrt massiv h-sgk-exprimierende Zellen.

M. Alzheimer:

- 5 Im normalen Gehirn finden sich nur vereinzelt Zellen, die h-sgk exprimieren. Diese Zellen sind wahrscheinlich Oligodendroglia-Zellen. In Gehirnen mit M. Alzheimer ist die Zahl h-sgk-exprimierender Zellen signifikant gesteigert.

Leberszirrhose:

- 10 In der normalen Leber exprimieren nur Kupffierzellen die h-sgk. Bei Leberszirrhose ist das Gewebe jedoch mit h-sgk-exprimierenden Zellen übersät.

Morbus Crohn:

In normalem Darmgewebe wird die h-sgk ausschließlich in den Enterocyten exprimiert. Bei Morbus Crohn wird die Kinase jedoch auch im Bindegewebe gefunden.

Fibrosierende Pankreatitis:

- 15 Im normalen Pankreas wird die h-sgk in Azinarzellen und auch in Gangzellen gefunden. Vereinzelt finden sich h-sgk-exprimierende mononukleäre Zellen um die Pankreasgänge. Bei fibrosierender Pankreatitis ist die Expression der Kinase deutlich gesteigert.

Lungenfibrose und chronische Bronchitis:

- 20 Massive Expression der h-sgk wird bei der Lungenfibrose und chronischen Bronchitis beobachtet.

Stimulation der h-sgk-Expression durch $TGF\beta_1$:

Die Expression der h-sgk wird durch $TGF\beta_1$ stimuliert (Fig. 1). Da $TGF\beta_1$ in fibrosierend-entzündetem Gewebe gebildet wird, erklärt dieser Befund die gesteigerte Expression der h-sgk in entzündetem Gewebe.

TGF β ₁ stimuliert die Expression des Matrixproteins Biglycan, eine Wirkung, die durch den NKCC-Hemmer Furosemid unterbunden wird:

5 TGF β ₁ stimuliert die Expression von Biglycan. In Anwesenheit des NKCC-Hemmers Furosemid ist die Wirkung von TGF β ₁ auf die Biglycan-Expression völlig unterbunden. Also setzt die fibrosierende Wirkung von TGF β ₁ eine Aktivierung des NKCC voraus (Fig. 2).

Stimulation des NKCC durch h-sgk:

Die gesteigerte Expression der Kinase in fibrosierendem Gewebe könnte vielfältige Bedeutung haben, die nicht in kausalem Zusammenhang mit der Fibrosierung steht. Experimente mit der Zwei-Elektroden-Spannungsklemme zeigen jedoch, daß die Aktivität des NKCC durch die h-sgk massiv stimuliert wird (Fig. 3). Dieser Befund belegt, angesichts der Furosemid-Empfindlichkeit der Biglycan-Synthese, eindeutig eine kausale Rolle der h-sgk bei der Fibrosierung.

Stimulation des ENaC durch h-sgk:

15 Diese Wirkung kann durch die Kinasehemmer Staurosporin und Chelerythrin unterbunden werden. Wie Fig. 4 zeigt, steigt der Strom durch ENaC durch Koexpression mit der h-sgk massiv an. Die Kinase stimuliert daher den ENaC. Durch die Kinase-Hemmer Staurosporin und Chelerythrin kann die Aktivierung des ENaC durch die h-sgk völlig unterbunden werden.

Die Stimulation des epithelialen ENaC durch die h-sgk kann durch Coexpression der transdominant-inhibitorischen Kinase h-sgk umgekehrt werden:

20 Wie Fig. 5 zeigt, kann die stimulierende Wirkung der h-sgk-Coexpression auf den ENaC-vermittelten Na⁺-Strom durch Coexpression einer transdominant inhibitorischen Kinase unterbunden werden. Diese transdominant-inhibitorische Kinase (vergleiche mit "Begriffsbestimmungen") ist an der katalytischen Einheit so verändert, daß sie ihre Funktion nicht mehr entfalten kann. Da sie sich aber an das Substrat anlagert, verdrängt sie die wirksame Kinase und unterdrückt damit deren Wirkung. Die transdominant-inhibitorische Kinase unterbindet nicht nur die Steigerung der ENaC-Aktivität durch exogene h-sgk, sondern unterdrückt offenbar auch die Stimulation durch die endogene h-sgk.

MDEG wird durch Coexpression mit h-sgk völlig ausgeschaltet:

Wie Fig. 6 zeigt, induziert die Expression des MDEG in Oocyten einen starken Na^+ -Strom, der durch Senkung des extrazellulären pH aktiviert wird. Der Kanal wird durch Coexpression mit h-sgk völlig blockiert. Daraus muß geschlossen werden, daß die h-sgk die neuronale Erregbarkeit hemmt. **Beispiele:**

5 **Beispiel 1:** In situ Hybridisierung

- Gewebe von normalem Pankreas, Leber, Gefäßen, Gehirn, Lunge, Niere und Darm, sowie Gewebe mit diabetischer Nephropathie, Arteriosklerose, M. Alzheimer, Leberszirrhose, M. Crohn, fibrosierender Pankreatitis und Lungenfibrose wurde in 4 % Paraformaldehyd / 0,1 M Natriumphosphat-Puffer (pH 7,2) für 4 Stunden in Praffin eingebettet. Gewebeschnitte wurden
- 10 entwacht und hybridisiert so wie früher beschrieben (Kandolf, R., D. Ameis, P. Kirschner, A. Canu, P. H. Hofschneider, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 6272-6276, 1987; Hohenadl, C., K. Klingel, J. Mertsching, P. H. Hofschneider, R. Kandolf., Mol. Cell. Probes 5: 11-20, 1991; Klingel, K., C. Hohenadl, A. Canu, M. Albrecht, M. Seemann, G. Mall, R. Kandolf, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 314-318, 1992).
- 15 Die Hybridisierungsmischung enthielt entweder für h-sgk kodierende, ^{35}S -markierte Sense-RNA oder zu letzterer RNA komplementäre, ^{35}S -markierte Antisense-RNA (jeweils 500 ng/ml) in 10 mM Tris-HCl, pH 7.4; 50 % (vol/vol) deionisiertes Formamid; 600 mM NaCl; 1 mM EDTA; 0,02 % Polyvinylpyrrolidon; 0,02 % Ficoll; 0,05% Kälberserumalbumin; 10 % Dextransulfat; 10 mM Dithiothreitol; 200 $\mu\text{g/ml}$ denaturierte sonizierte Lachsspermien-DNA und 100 $\mu\text{g/ml}$
- 20 Kaninchenleber-tRNA.

- Hybridisierung mit RNA Proben wurde bei 42° C für 18 Stunden durchgeführt. Die Objektträger wurden gewaschen wie beschrieben (Hohenadl et al., 1991; Klingel et al., 1992), und dann für 1 Stunde bei 55° C in 2x Standard-Natriumcitrat inkubiert. Nicht hybridisierte einsträngige RNA Proben wurden durch RNase A (20 $\mu\text{g/ml}$) in 10 mM Tris-HCl, pH 8,0 / 0,5 M NaCl für 30 min
- 25 bei 37° C verdaut. Gewebeproben wurden dann für drei Wochen autoradiographiert (Klingel et al., 1992) und mit Hematoxylin/Eosin gefärbt.

Beispiel 2: Transskriptionelle Regulation von Biglykan und der h-sgk.

Zellen wurden in RPMi / 5 % CO_2 / 10 mM Glucose bei 37° C, pH 7,4, supplementiert mit 10 % (vol/vol) fötalem Kälberserum (FCS) kultiviert. Die Zellen wurden zu 90 % Konfluenz

gezüchtet und dann in TRIZOL (GIBCO/BRL) (ca. $0,4 \times 10^6$ per Sample) homogenisiert. Totale RNA wurde nach Anweisung des Herstellers präpariert. Northern Blots wurden mit 15 oder 20 μg totaler RNA mit getrennter Kontrolle in Anwesenheit von 2,4 mol/l Formaldehyd durch 10 g/l Agarosegele elektrophoretisch aufgetrennt. Durch ein Vakuum (Appligene Oncor Trans DNA Express Vacuum Blotter, Appligene, Heidelberg, Deutschland) wurde RNA auf positiv geladene Nylon-Membranen (Boehringer Mannheim, Germany) übertragen und unter Ultraviolett-Licht vernetzt (UV Stratalinker 2400, Stratagene, Heidelberg, Germany). Übernacht wurde mit DIG-Easy-Hyb (Boehringer Mannheim) bei einer Probenkonzentration von 25 $\mu\text{g/l}$ bei 50° C hybridisiert. Die Digoxigenin (DIG)-markierten Proben wurden durch PCR erzeugt, wie früher ausführlich beschrieben wurde (Waldegger et al. (1997) PNAS 94: 4440-4445) . Zur Autoradiographie wurden die Filter im Durchschnitt 5 min. einem Röntgenfilm (Kodak) exponiert.

Beispiel 3: Zweielektroden-Spannungsklemme und Tracerflux-Experimente.

Die Dissection von *Xenopus laevis*, die Gewinnung und Behandlung der Oocyten wurde im Detail früher beschrieben (Busch et al. 1992). Die Oocyten wurden je mit 1 ng cRNA von NKCC, ENaC oder MDEG mit oder ohne gleichzeitige Injektion der h-sgk injiziert. Zweielektroden-Spannungs- und Strom-Klemme- Experimente konnten 2-8 Tage nach Injektion durchgeführt werden. Furosemid-hemmbarer Na^+ -Einstrom durch den NKCC wurde durch $^{22}\text{Na}^+$ -Aufnahme in die Oocyten ermittelt, die mit einem Scintillationszähler bestimmt wurde. Na^+ -Ströme (ENaC) wurden bei 10 Hz gefiltert und mit einem Schreiber aufgezeichnet. Die Experimente wurden normalerweise am 2. Tag nach cRNA Injektion durchgeführt. Die Badlösung enthielt: 96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1.8 mM CaCl_2 , 1 mM MgCl_2 , und 5 mM HEPES bei pH 7.5 und das Haltepotential betrug -50 mV. In allen Experimenten wurde der pH-Wert durch Titration mit HCl oder NaOH eingestellt. Die Flußrate der Badflüssigkeit wurde auf 20 ml/min eingestellt, wodurch ein kompletter Lösungswechsel in der Meßkammer innerhalb von 10-15 s gewährleistet wurde. Alle Daten werden in Form von arithmetischen Mittelwerten \pm SEM angegeben.

Abbildungslegenden:

Fig. 1: Stimulation der h-sgk-Expression durch $\text{TGF}\beta_1$:

Die Expression der h-sgk wird durch $\text{TGF}\beta_1$ stimuliert. Gezeigt ist die Wirkung von $\text{TGF}\beta_1$ nach 0,5 bis 6h (oben). Phorbol-12,13-didecanoat; stimuliert die Proteinkinase C) und Ca^{++} -Ionophor Ionomycin (Sigma, loc. cit.; steigert die intrazelluläre Ca^{++} -Konzentration) stimulieren gleichfalls die h-sgk Expression (unten).

Fig. 2: Stimulation der Biglycan-Expression durch $\text{TGF}\beta_1$:

Die Expression von Biglycan (B) wird durch osmotische Zellschwellung (hypo = h, links oben) und durch $\text{TGF}\beta_1$ (rechts oben) stimuliert. In Anwesenheit des NKCC-Hemmers Bumetanid (b) ist die Wirkung von $\text{TGF}\beta_1$ auf die Biglycan-Expression fast vollständig unterbunden (control = c).

Fig. 3: Stimulation des NKCC durch h-sgk:

Die Furosemid-hemmbar Aufnahme von $^{22}\text{Na}^+$ in Oocyten [uptake (nmol/20 min/oocyte) = u], die den NKCC exprimieren, wird durch die h-sgk massiv stimuliert. NKCC injizierte Oocyten zeigen keinen höheren Na^+ -Einstrom als nicht injizierte Oocyten (n.i.). Dieser Na^+ -Einstrom wird nicht durch den NKCC-Hemmer Furosemid (= F) gehemmt (oben). Expression der h-sgk alleine führt zu keiner Stimulation des Na^+ -Einstromes. Coexpression der h-sgk mit NKCC führt zu einer starken Zunahme des Na^+ -Einstromes, die vollständig durch Furosemid unterbunden wird (unten).

Fig. 4: Stimulation des ENaC durch h-sgk:

Der Strom durch den ENaC (I) nimmt durch Coexpression mit h-sgk massiv zu. Behandlung der Oocyten mit den Kinase-Hemmern Staurosporin (S) oder Chelerythrin (C) unterbindet die Aktivierung des Na^+ -Kanals durch h-sgk.

Fig. 5: Die Stimulation des ENaC durch h-sgk kann durch Coexpression der transdominant-inhibitorischen Kinase umgekehrt werden:

Oocyten, die gleichzeitig ENaC und h-sgk exprimieren, weisen sehr viel größere Ströme (I) auf als Oocyten, die nur den ENaC exprimieren. Coexpression der transdominant-inhibitorischen Kinase unterbindet die Stimulation des ENaC durch die h-sgk.

5 Fig. 6: Hemmung des MDEG durch h-sgk:

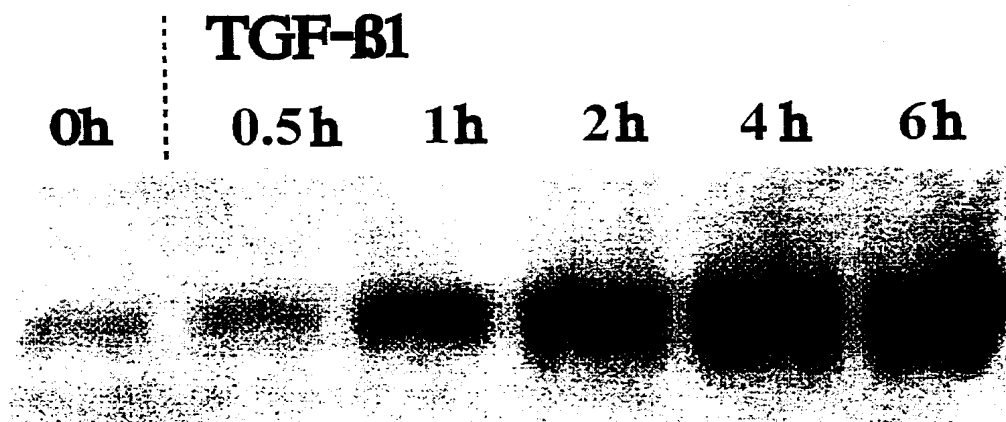
Der Strom durch den MDEG (I) nimmt mit der Zeitdauer der Inkubation zu [Tag (T) 1 – 4]. Durch Coexpression mit h-sgk wird der Strom völlig unterbunden (peak = p; plateau = pl).

Patentansprüche

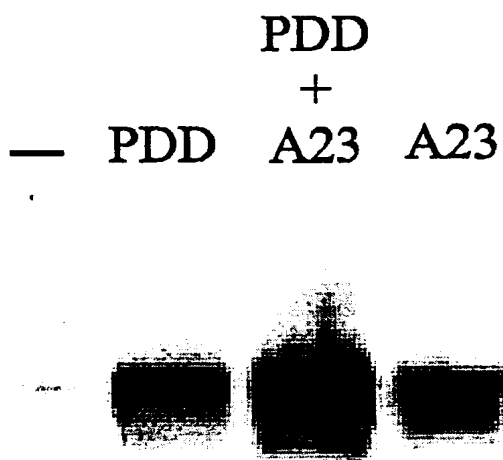
1. Arzneimittel enthaltend einen Hemmstoff der zellvolumenregulierten humanen Kinase h-sgk.
- 5 2. Arzneimittel gemäß Anspruch 1, worin der Hemmstoff Staurosporin oder Chelerythrin ist.
3. Arzneimittel enthaltend einen Aktivator der zellvolumenregulierten humanen Kinase h-sgk.
- 10 4. Arzneimittel gemäß Anspruch 3, worin der Aktivator die Bluthirnschranke überschreiten kann.
5. Verwendung eines Hemmstoffs der zellvolumenregulierten humanen Kinase h-sgk, insbesondere Staurosporin oder Chelerythrin, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung fibrosierender Erkrankungen.
- 15 6. Verwendung gemäß Anspruch 5, wobei es sich um eine oder mehrere der folgenden Erkrankungen handelt: Arteriosklerose, Morbus Alzheimer, Leberszirrhose, Morbus Crohn, fibrosierende Pankreatitis, Lungenfibrose, chronische Bronchitis, Strahlenfibrose, Sklerodermie oder zystische Fibrose.
- 20 7. Verwendung eines Hemmstoffs der zellvolumenregulierten humanen Kinase h-sgk, insbesondere Staurosporin oder Chelerythrin, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Diabetes mellitus oder einer arteriellen Hypertonie.
8. Verwendung eines Aktivators der zellvolumenregulierten humanen Kinase h-sgk zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung einer Epilepsie.
9. Verwendung gemäß Anspruch 8, worin der Aktivator die Bluthirnschranke überschreiten kann.

1/6

Fig. 1



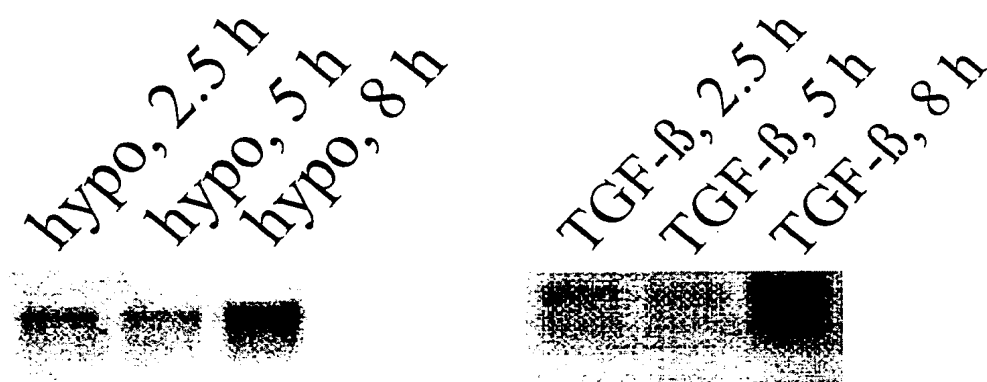
(Fig. 1a)



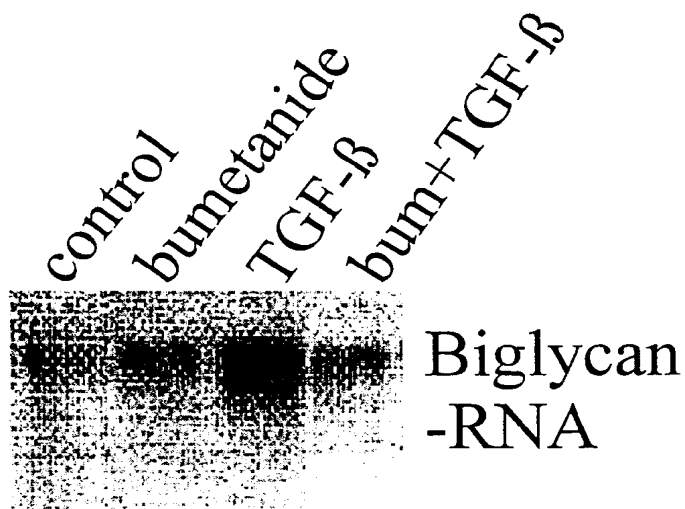
(Fig. 1b)

Fig. 2

2/6



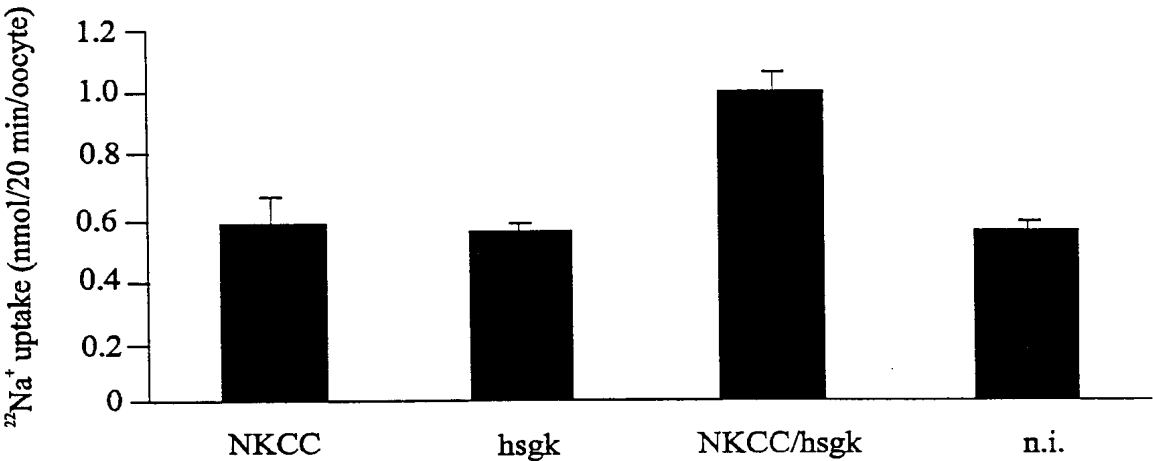
(Fig. 2a)



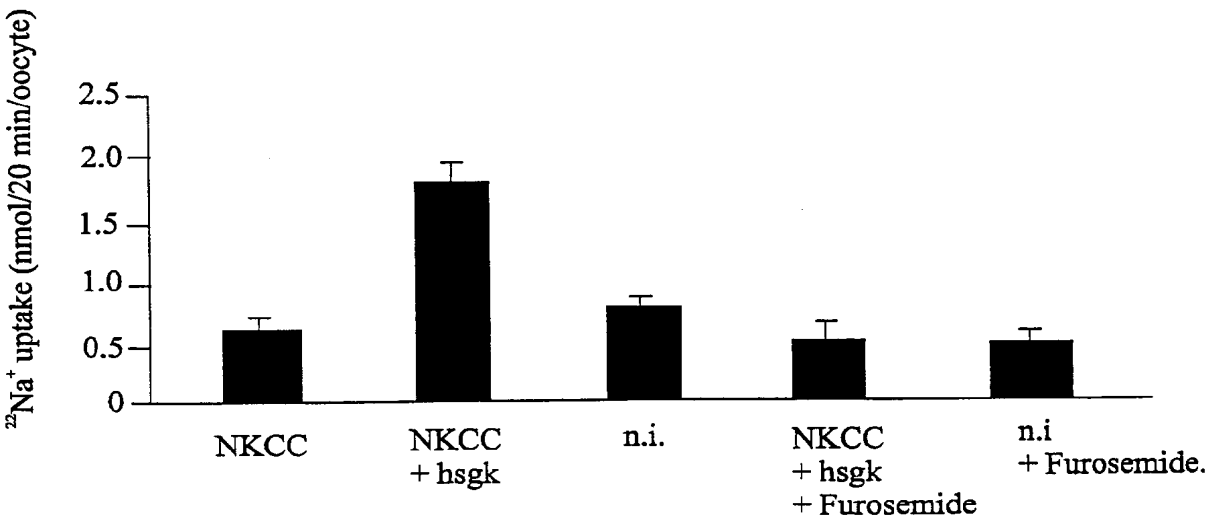
(Fig. 2b)

Fig. 3

3 / 6



(Fig. 3a)



(Fig. 3b)

Fig. 4

4 / 6

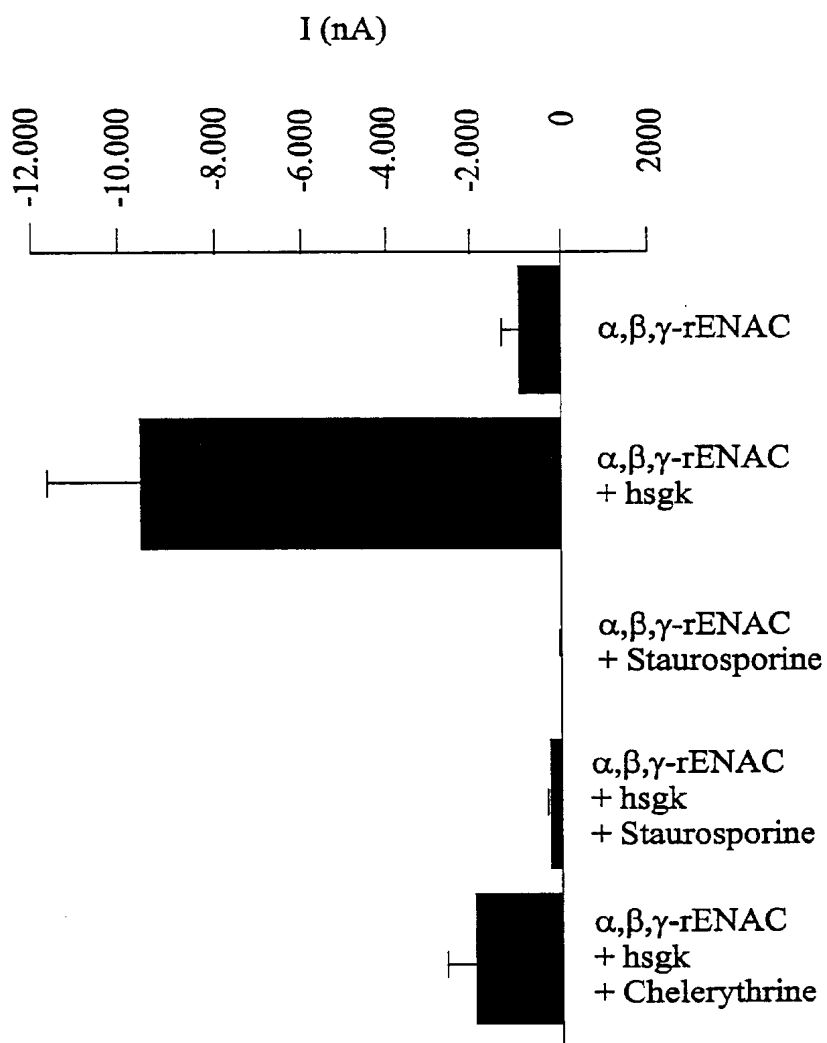


Fig. 5

5 / 6

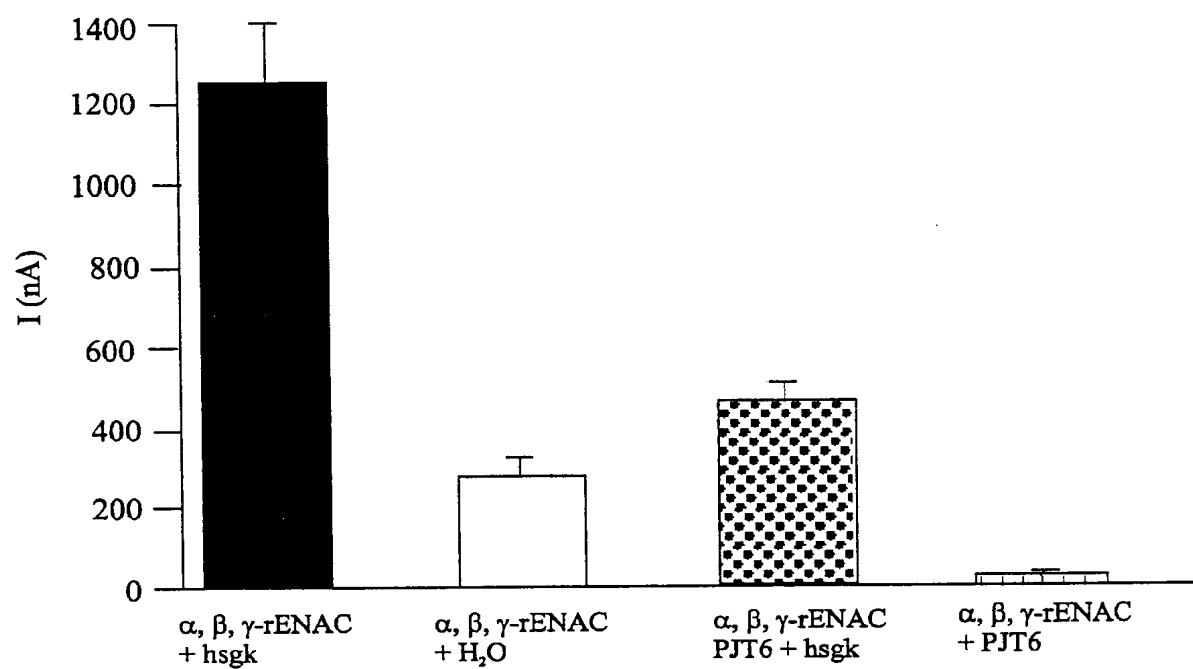
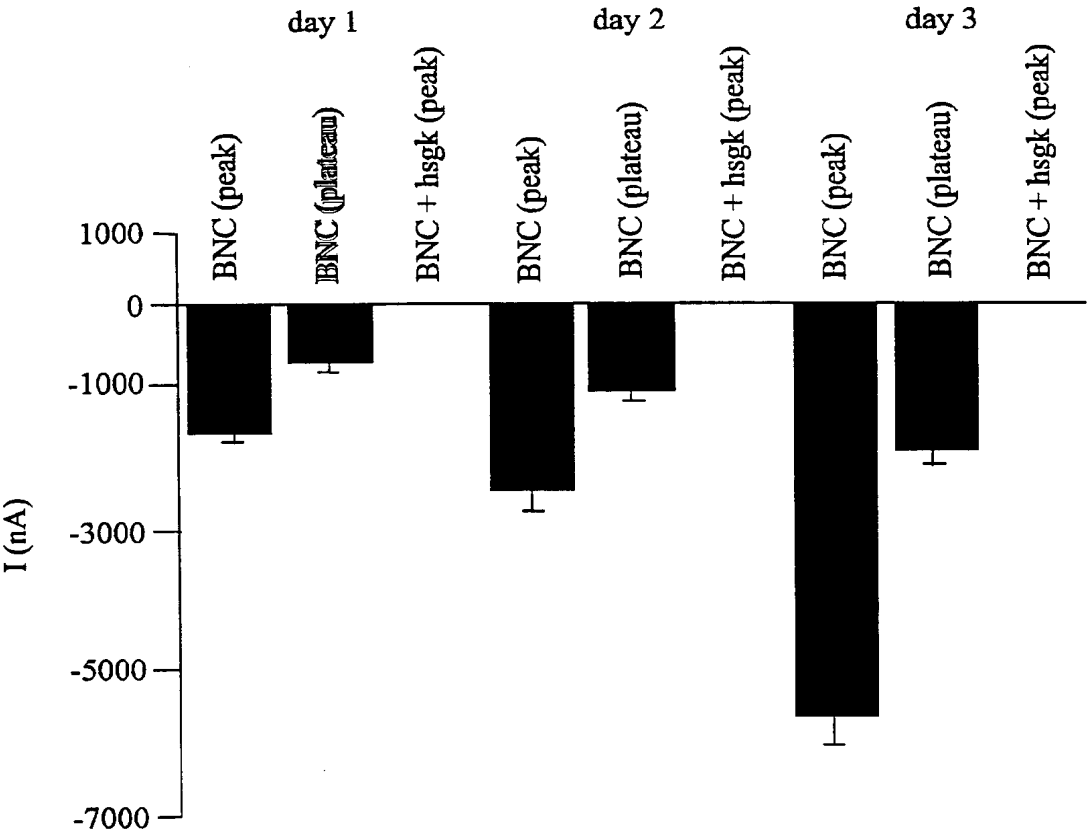


Fig. 6



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 00/03578

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/4741 A61K31/553 A61P9/10 A61P9/12 A61P25/08
A61P1/18 A61K31/00 A61P25/28 A61P1/16 A61P1/04
A61P11/00 A61P43/00 A61P17/00 A61P3/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS, SCISEARCH, CHEM ABS Data, AIDSLINE, CANCERLIT, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | EP 0 887 081 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 30 December 1998 (1998-12-30) page 2, line 54 - line 55 page 7, line 30 - line 42 page 9, line 27 - line 34 page 10, line 56 -page 11, line 54 claims 1,2 --- | 1,3-6 |
| X | EP 0 889 127 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 7 January 1999 (1999-01-07) abstract page 2, line 50 - line 56 page 3, line 9 - line 12 page 14, line 3 - line 46 page 16, line 45 -page 17, line 47 claims 13,14 --- -/-- | 1,3-6 |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 September 2000

Date of mailing of the international search report

28/09/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cielen, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. .tional Application No

PCT/EP 00/03578

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| X | US 5 242 397 A (DENES FERENC ET AL) 7 September 1993 (1993-09-07) abstract column 1, line 12 - line 20 column 4, line 53 - line 55 column 5, line 2 - line 28 claims 1-3,7-9 --- | 1,2,5,6 |
| X | WO 97 07081 A (DIETRICH HANS JUERGEN ;PFLUM DEREK A (US); UNIV YALE (US); WOOD JO) 27 February 1997 (1997-02-27) page 1, line 12 - line 22 page 2, line 5 - line 14 page 7, line 12 - line 15 example 4 --- | 1,2,5-7 |
| X | WO 99 02532 A (NOVARTIS ERFINDUNGEN VERWALTUN ;NOVARTIS AG (CH); ZIMMERMANN JUERG) 21 January 1999 (1999-01-21) page 2, paragraph 2 page 20, paragraph 3 page 28, paragraph 2 --- | 1,2,5,6 |
| X | EP 0 657 164 A (CIBA GEIGY AG) 14 June 1995 (1995-06-14) abstract page 2, line 1 - line 23 --- | 1,2,5,6 |
| X | US 4 107 297 A (OMURA SATOSHI ET AL) 15 August 1978 (1978-08-15) column 1, line 4 - line 10 --- | 1,2,7 |
| X | US 5 137 912 A (TENG CHE-MING ET AL) 11 August 1992 (1992-08-11) abstract column 3, line 1 - line 17 claims --- | 1,2 |
| X | SECREST R J ET AL: "Hypotensive properties of the protein kinase inhibitor, staurosporine, in normotensive and spontaneously hypertensive rats." CLINICAL AND EXPERIMENTAL HYPERTENSION. PART A, THEORY AND PRACTICE, (1991) 13 (2) 219-34. , XP000912287 abstract page 220, paragraph 2 page 224, paragraph 4 page 231, paragraphs 2,4 page 232, paragraph 4 -page 233, paragraph 1 --- -/-- | 1,2,5,7 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/03578

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| X | <p>FRIEDMAN LILACH MIRA; MATSUDA YUZURU; LAZAROVICI PHILIP : "The microbial alkaloid toxin staurosporine blocks the phorbol ester-induced increase in beta-amyloid precursor protein in PC12 cells. " NATURAL TOXINS , vol. 5, no. 5, 1997, pages 173-179, XP000912203 abstract page 173, column 2, paragraph 1 page 178, column 1, paragraph 2 -page 179, column 1, paragraph 1 ---</p> | 1,2,5,6 |
| X | <p>NABESHIMA T ET AL: "STAUROSPORINE FACILITATES RECOVERY FROM THE BASAL FOREBRAIN- LESION-INDUCED IMPAIRMENT OF LEARNING AND DEFICIT OF CHOLINERGIC NEURON IN RATS" JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS,US,AMERICAN SOCIETY FOR PHARMACOLOGY AND, vol. 257, no. 2, 1 April 1991 (1991-04-01), pages 562-566, XP000618959 ISSN: 0022-3565 abstract page 562, column 2, paragraph 2 - paragraph 3 page 565, column 1, paragraph 3 -column 2, paragraph 2 ---</p> | 1,2,5,6 |
| X | <p>CHENG H S ET AL: "Modulation of Ca2+-dependent anion secretion by protein kinase C in norma and cystic fibrosis pancreatic duct cells." BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA, (1999 APR 14) 1418 (1) 31-8. , XP000900908 abstract page 31, column 1, paragraph 1 -page 32, column 1, paragraph 2 figure 3 page 37, column 1, paragraph 2 page 37, column 2, paragraph 2 -page 38, column 1, paragraph 1 --- -/--</p> | 1,2,5,6 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int .tional Application No
PCT/EP 00/03578

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| X | DONALDSON KENNETH; LI XIAO YANG; DOGRA SHASHI; MILLER BRIAN G; BROWN GERALDINE M : "Asbestos-stimulated tumour necrosis factor release from alveolar macrophages depends on fibre length and opsonization." JOURNAL OF PATHOLOGY , vol. 168, no. 2, 1992, pages 243-248, XP000912283 abstract page 243, column 1, paragraph 1 page 246, column 2, paragraph 2 -page 247, column 1, paragraph 2 page 247, column 2, paragraph 4 -page 248, column 1, paragraph 2 --- | 1,2,5,6 |
| A | SMITH S E; MELDRUM B S : "THE PROTEIN KINASE C ACTIVATORS PHORBOL-12-MYRISTATE-13-ACETATE AND PHORBOL-12 13-DIBUTYRATE ARE CONVULSANT IN THE PICO-NANOMOLAR RANGE IN MICE " EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY , vol. 213, no. 1, 1992, pages 133-135, XP000912280 abstract page 133, column 2, paragraph 2 page 135, column 1, paragraph 2 page 135, column 2, paragraph 2 --- | 3,4,8,9 |
| A | US 5 874 464 A (LEWIN NANCY E ET AL) 23 February 1999 (1999-02-23) abstract column 2, line 47 - line 51 column 5, line 34 -column 6, line 23 --- | 5,6 |
| A | WO 97 45397 A (HOECHST MARION ROUSSEL INC) 4 December 1997 (1997-12-04) abstract page 1, line 15 - line 27 page 5, line 6 - line 20 page 6, line 31 -page 7, line 34 page 15, line 1 - line 9 claims 1,22,24,26,29,35 --- -/-- | 5-7 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/03578

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| P,X | <p>CAMERON N E ET AL: "Protein kinase C effects on nerve function, perfusion, Na(+), K(+)-ATPase activity and glutathione content in diabetic rats." DIABETOLOGIA, (1999 SEP) 42 (9) 1120-30. , XP000912296</p> <p>abstract</p> <p>page 1120, column 1, paragraph 1</p> <p>page 1121, column 2, paragraph 2</p> <p>page 1126, column 2, paragraph 2</p> <p>page 1127, column 2, paragraph 2</p> <p>page 1128, column 1, paragraph 4 -column 2, paragraph 1</p> <p>-----</p> | 1,2 |

ADDITIONAL MATTER PCT/ISA/210

Continuation of box I.2

Patent Claims Nos. 1, 3- 9 relate to a product and the therapeutic use thereof, respectively characterized by desirable properties or qualities, i.e. « an inhibitor of cell-volume regulated human kinase h-sgk » and an « activator of cell-volume regulated human kinase h-sgk ». The patent claims therefore include all products and therapeutic uses thereof etc. which exhibit these properties or qualities. However, the description of the patent application only provides support for a limited number of such products and uses thereof etc. under the terms of Article 5 of the PCT. In the present case, the patent claims lack the appropriate support and the patent application lacks the required disclosure to such an extent that a meaningful search encompassing the entire scope of protection sought seems impossible. Moreover, the patent claims lack the clarity required under Article 6 of the PCT, whereby an attempt is made to define the product and the use thereof by the respectively desired result. The lack of clarity is such that it is impossible to carry out a search covering the full scope of protection sought.

Moreover, Claim No. 5 relates to a use which is defined by the parameter « fibrosing diseases ». The use of this parameter in the given context must appear as a lack of clarity under the terms of Article 6 of the PCT. It is impossible to compare the parameters selected by the applicant to the disclosures of prior art. The lack of clarity is such that it is impossible to carry out a complete, meaningful search. The search was therefore directed at parts of the claims that seemed to be clear, supported and disclosed according to the above-mentioned terms, i.e. parts relating to the products staurosporin and chelerythrin and the specific diseases described in Claims Nos. 6,7 and 8, while taking the inventive concept on which the application is based into due consideration.

The applicant is reminded that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). The EPO, in its capacity as the authority entrusted with the internal preliminary examination, does not as a general rule conduct a preliminary examination of subject matter for which no search report is available. This also applies to the case where the patent claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or to the case where the applicant provides new patent claims pursuant to the procedure mentioned in PCT Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/03578

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| EP 0887081 | A | 30-12-1998 | JP 11092401 A | 06-04-1999 |
| EP 0889127 | A | 07-01-1999 | CA 2235785 A | 01-01-1999 |
| | | | JP 11123086 A | 11-05-1999 |
| US 5242397 | A | 07-09-1993 | HU 212760 B | 28-02-1997 |
| | | | US 5112305 A | 12-05-1992 |
| WO 9707081 | A | 27-02-1997 | AU 6888196 A | 12-03-1997 |
| | | | US 6037468 A | 14-03-2000 |
| WO 9902532 | A | 21-01-1999 | AU 8856298 A | 08-02-1999 |
| | | | ZA 9805919 A | 13-01-1999 |
| EP 0657164 | A | 14-06-1995 | AT 185970 T | 15-11-1999 |
| | | | AU 692801 B | 18-06-1998 |
| | | | AU 8030894 A | 22-06-1995 |
| | | | CA 2137764 A | 12-06-1995 |
| | | | DE 69421366 D | 02-12-1999 |
| | | | DE 69421366 T | 23-03-2000 |
| | | | ES 2140512 T | 01-03-2000 |
| | | | IL 111872 A | 08-02-1998 |
| | | | JP 7196512 A | 01-08-1995 |
| | | | NZ 270109 A | 26-11-1996 |
| | | | PT 657164 T | 28-04-2000 |
| | | | US 5736542 A | 07-04-1998 |
| | | | ZA 9409824 A | 13-07-1995 |
| US 4107297 | A | 15-08-1978 | JP 1166098 C | 08-09-1983 |
| | | | JP 53073501 A | 30-06-1978 |
| | | | JP 57053076 B | 11-11-1982 |
| | | | CH 634103 A | 14-01-1983 |
| | | | DE 2754326 A | 15-06-1978 |
| | | | FR 2373556 A | 07-07-1978 |
| | | | GB 1542995 A | 28-03-1979 |
| US 5137912 | A | 11-08-1992 | NONE | |
| US 5874464 | A | 23-02-1999 | NONE | |
| WO 9745397 | A | 04-12-1997 | AU 2736597 A | 05-01-1998 |
| | | | BR 9709406 A | 10-08-1999 |
| | | | CA 2257136 A | 04-12-1997 |
| | | | CN 1220660 A | 23-06-1999 |
| | | | EP 0906268 A | 07-04-1999 |
| | | | HU 9901621 A | 30-08-1999 |
| | | | NO 985577 A | 27-01-1999 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03578

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K31/4741 A61K31/553 A61P9/10 A61P9/12 A61P25/08
A61P1/18 A61K31/00 A61P25/28 A61P1/16 A61P1/04
A61P11/00 A61P43/00 A61P17/00 A61P3/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS, SCISEARCH, CHEM ABS Data, AIDSLINE, CANCERLIT, MEDLINE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie ^o | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------------------|---|--------------------|
| X | EP 0 887 081 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 30. Dezember 1998 (1998-12-30) Seite 2, Zeile 54 - Zeile 55 Seite 7, Zeile 30 - Zeile 42 Seite 9, Zeile 27 - Zeile 34 Seite 10, Zeile 56 -Seite 11, Zeile 54 Ansprüche 1,2 --- | 1,3-6 |
| X | EP 0 889 127 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 7. Januar 1999 (1999-01-07) Zusammenfassung Seite 2, Zeile 50 - Zeile 56 Seite 3, Zeile 9 - Zeile 12 Seite 14, Zeile 3 - Zeile 46 Seite 16, Zeile 45 -Seite 17, Zeile 47 Ansprüche 13,14 --- -/-- | 1,3-6 |



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

^o Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

21. September 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

28/09/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Cielen, E

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|-----------|---|--------------------|
| X | US 5 242 397 A (DENES FERENC ET AL) 7. September 1993 (1993-09-07) Zusammenfassung Spalte 1, Zeile 12 - Zeile 20 Spalte 4, Zeile 53 - Zeile 55 Spalte 5, Zeile 2 - Zeile 28 Ansprüche 1-3,7-9 --- | 1,2,5,6 |
| X | WO 97 07081 A (DIETRICH HANS JUERGEN ;PFLUM DEREK A (US); UNIV YALE (US); WOOD JO) 27. Februar 1997 (1997-02-27) Seite 1, Zeile 12 - Zeile 22 Seite 2, Zeile 5 - Zeile 14 Seite 7, Zeile 12 - Zeile 15 Beispiel 4 ---- | 1,2,5-7 |
| X | WO 99 02532 A (NOVARTIS ERFINDUNGEN VERWALTUN ;NOVARTIS AG (CH); ZIMMERMANN JUERG) 21. Januar 1999 (1999-01-21) Seite 2, Absatz 2 Seite 20, Absatz 3 Seite 28, Absatz 2 ---- | 1,2,5,6 |
| X | EP 0 657 164 A (CIBA GEIGY AG) 14. Juni 1995 (1995-06-14) Zusammenfassung Seite 2, Zeile 1 - Zeile 23 ---- | 1,2,5,6 |
| X | US 4 107 297 A (OMURA SATOSHI ET AL) 15. August 1978 (1978-08-15) Spalte 1, Zeile 4 - Zeile 10 ---- | 1,2,7 |
| X | US 5 137 912 A (TENG CHE-MING ET AL) 11. August 1992 (1992-08-11) Zusammenfassung Spalte 3, Zeile 1 - Zeile 17 Ansprüche ---- | 1,2 |
| X | SECREST R J ET AL: "Hypotensive properties of the protein kinase inhibitor, staurosporine, in normotensive and spontaneously hypertensive rats." CLINICAL AND EXPERIMENTAL HYPERTENSION. PART A, THEORY AND PRACTICE, (1991) 13 (2) 219-34. XP000912287 Zusammenfassung Seite 220, Absatz 2 Seite 224, Absatz 4 Seite 231, Absätze 2,4 Seite 232, Absatz 4 -Seite 233, Absatz 1 ---- | 1,2,5,7 |
| | ---/--- | |

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|-----------|--|--------------------|
| X | <p>FRIEDMAN LILACH MIRA; MATSUDA YUZURU; LAZAROVICI PHILIP : "The microbial alkaloid toxin staurosporine blocks the phorbol ester-induced increase in beta-amyloid precursor protein in PC12 cells." NATURAL TOXINS Bd. 5, Nr. 5, 1997, Seiten 173-179, XP000912203 Zusammenfassung Seite 173, Spalte 2, Absatz 1 Seite 178, Spalte 1, Absatz 2 -Seite 179, Spalte 1, Absatz 1</p> <p>---</p> | 1,2,5,6 |
| X | <p>NABESHIMA T ET AL: "STAUROSPORINE FACILITATES RECOVERY FROM THE BASAL FOREBRAIN- LESION-INDUCED IMPAIRMENT OF LEARNING AND DEFICIT OF CHOLINERGIC NEURON IN RATS" JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS,US,AMERICAN SOCIETY FOR PHARMACOLOGY AND, Bd. 257, Nr. 2, 1. April 1991 (1991-04-01), Seiten 562-566, XP000618959 ISSN: 0022-3565 Zusammenfassung Seite 562, Spalte 2, Absatz 2 - Absatz 3 Seite 565, Spalte 1, Absatz 3 -Spalte 2, Absatz 2</p> <p>---</p> | 1,2,5,6 |
| X | <p>CHENG H S ET AL: "Modulation of Ca²⁺-dependent anion secretion by protein kinase C in normal and cystic fibrosis pancreatic duct cells." BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA, (1999 APR 14) 1418 (1) 31-8. , XP000900908 Zusammenfassung Seite 31, Spalte 1, Absatz 1 -Seite 32, Spalte 1, Absatz 2 Abbildung 3 Seite 37, Spalte 1, Absatz 2 Seite 37, Spalte 2, Absatz 2 -Seite 38, Spalte 1, Absatz 1</p> <p>---</p> <p>--- -/--</p> | 1,2,5,6 |

| C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN | | |
|--|---|--------------------|
| Kategorie | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
| X | <p>DONALDSON KENNETH; LI XIAO YANG; DOGRA SHASHI; MILLER BRIAN G; BROWN GERALDINE M : "Asbestos-stimulated tumour necrosis factor release from alveolar macrophages depends on fibre length and opsonization." JOURNAL OF PATHOLOGY , Bd. 168, Nr. 2, 1992, Seiten 243-248, XP000912283</p> <p>Zusammenfassung Seite 243, Spalte 1, Absatz 1 Seite 246, Spalte 2, Absatz 2 -Seite 247, Spalte 1, Absatz 2 Seite 247, Spalte 2, Absatz 4 -Seite 248, Spalte 1, Absatz 2</p> <p>---</p> | 1,2,5,6 |
| A | <p>SMITH S E; MELDRUM B S : "THE PROTEIN KINASE C ACTIVATORS PHORBOL-12-MYRISTATE-13-ACETATE AND PHORBOL-12 13-DIBUTYRATE ARE CONVULSANT IN THE PICO-NANOMOLAR RANGE IN MICE " EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY , Bd. 213, Nr. 1, 1992, Seiten 133-135, XP000912280</p> <p>Zusammenfassung Seite 133, Spalte 2, Absatz 2 Seite 135, Spalte 1, Absatz 2 Seite 135, Spalte 2, Absatz 2</p> <p>---</p> | 3,4,8,9 |
| A | <p>US 5 874 464 A (LEWIN NANCY E ET AL) 23. Februar 1999 (1999-02-23)</p> <p>Zusammenfassung Spalte 2, Zeile 47 - Zeile 51 Spalte 5, Zeile 34 -Spalte 6, Zeile 23</p> <p>---</p> | 5,6 |
| A | <p>WO 97 45397 A (HOECHST MARION ROUSSEL INC) 4. Dezember 1997 (1997-12-04)</p> <p>Zusammenfassung Seite 1, Zeile 15 - Zeile 27 Seite 5, Zeile 6 - Zeile 20 Seite 6, Zeile 31 -Seite 7, Zeile 34 Seite 15, Zeile 1 - Zeile 9 Ansprüche 1,22,24,26,29,35</p> <p>---</p> <p>-/--</p> | 5-7 |

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie: | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| P,X | <p>CAMERON N E ET AL: "Protein kinase C effects on nerve function, perfusion, Na(+), K(+)-ATPase activity and glutathione content in diabetic rats." DIABETOLOGIA, (1999 SEP) 42 (9) 1120-30. , XP000912296</p> <p>Zusammenfassung</p> <p>Seite 1120, Spalte 1, Absatz 1</p> <p>Seite 1121, Spalte 2, Absatz 2</p> <p>Seite 1126, Spalte 2, Absatz 2</p> <p>Seite 1127, Spalte 2, Absatz 2</p> <p>Seite 1128, Spalte 1, Absatz 4 -Spalte 2, Absatz 1</p> <p>-----</p> | 1,2 |

Fortsetzung von Feld I.2

Die geltenden Patentansprüche 1, 3-9 beziehen sich auf ein Produkt und dessen therapeutische Verwendung, jeweils charakterisiert durch erstrebenswerte Eigenheiten oder Eigenschaften, nämlich "einen Hemmstoff der zellvolumenregulierten humane Kinase h-sgk" und "einen Aktivator der zellvolumenregulierten humane Kinase h-sgk". Die Patentansprüche umfassen daher alle Produkte und deren therapeutischen Verwendungen etc., die diese Eigenheiten oder Eigenschaften aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Art. 5 PCT nur für eine begrenzte Zahl solcher Produkte und deren Verwendungen etc. liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, das Produkt und dessen Verwendung über das jeweils erstrebte Ergebnis zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht.

Außerdem ist der Patentanspruch 5 auf eine Verwendung, die mittels der Parameter "fibrosierende Erkrankungen" definiert wird, zu beziehen. Die Verwendung dieses Parameters muss im gegebenen Zusammenhang als Mangel an Klarheit im Sinne von Art. 6 PCT erscheinen. Es ist unmöglich, die vom Anmelder gewählte Parameter mit dem zu vergleichen, was der Stand der Technik hierzu offenbart. Der Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle vollständige Recherche unmöglich macht. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als klar, gestützt oder offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend die Produkte Staurosporin und Chelerythrin und die spezifische Erkrankungen beschrieben in den Ansprüchen 6,7 und 8 unter angemessener Berücksichtigung der erfinderischen Idee die der Anmeldung unterliegt.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03578

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | | Datum der Veröffentlichung |
|--|---|-------------------------------|-----------------------------------|------------|-------------------------------|
| EP 0887081 | A | 30-12-1998 | JP | 11092401 A | 06-04-1999 |
| EP 0889127 | A | 07-01-1999 | CA | 2235785 A | 01-01-1999 |
| | | | JP | 11123086 A | 11-05-1999 |
| US 5242397 | A | 07-09-1993 | HU | 212760 B | 28-02-1997 |
| | | | US | 5112305 A | 12-05-1992 |
| WO 9707081 | A | 27-02-1997 | AU | 6888196 A | 12-03-1997 |
| | | | US | 6037468 A | 14-03-2000 |
| WO 9902532 | A | 21-01-1999 | AU | 8856298 A | 08-02-1999 |
| | | | ZA | 9805919 A | 13-01-1999 |
| EP 0657164 | A | 14-06-1995 | AT | 185970 T | 15-11-1999 |
| | | | AU | 692801 B | 18-06-1998 |
| | | | AU | 8030894 A | 22-06-1995 |
| | | | CA | 2137764 A | 12-06-1995 |
| | | | DE | 69421366 D | 02-12-1999 |
| | | | DE | 69421366 T | 23-03-2000 |
| | | | ES | 2140512 T | 01-03-2000 |
| | | | IL | 111872 A | 08-02-1998 |
| | | | JP | 7196512 A | 01-08-1995 |
| | | | NZ | 270109 A | 26-11-1996 |
| | | | PT | 657164 T | 28-04-2000 |
| | | | US | 5736542 A | 07-04-1998 |
| | | | ZA | 9409824 A | 13-07-1995 |
| US 4107297 | A | 15-08-1978 | JP | 1166098 C | 08-09-1983 |
| | | | JP | 53073501 A | 30-06-1978 |
| | | | JP | 57053076 B | 11-11-1982 |
| | | | CH | 634103 A | 14-01-1983 |
| | | | DE | 2754326 A | 15-06-1978 |
| | | | FR | 2373556 A | 07-07-1978 |
| | | | GB | 1542995 A | 28-03-1979 |
| US 5137912 | A | 11-08-1992 | KEINE | | |
| US 5874464 | A | 23-02-1999 | KEINE | | |
| WO 9745397 | A | 04-12-1997 | AU | 2736597 A | 05-01-1998 |
| | | | BR | 9709406 A | 10-08-1999 |
| | | | CA | 2257136 A | 04-12-1997 |
| | | | CN | 1220660 A | 23-06-1999 |
| | | | EP | 0906268 A | 07-04-1999 |
| | | | HU | 9901621 A | 30-08-1999 |
| | | | NO | 985577 A | 27-01-1999 |